

***Freisetzung von Adenosin,
Inosin und Hypoxanthin
aus dem Herzen von Patienten
mit und ohne
koronare Herzkrankheit***

Jürgen Ontyd

*Aus dem Physiologischen Institut der
Universität München
Vorstand: Prof. Dr. E. Gerlach*

*Freisetzung von Adenosin,
Inosin und Hypoxanthin
aus dem Herzen von Patienten
mit und ohne
koronare Herzkrankheit*

*Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilian-Universität
zu München*

*vorgelegt von
Jürgen Ontyd
Düsseldorf
1986*

***Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München***

Berichterstatter: Prof. Dr. J. Schrader

***Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Gerlach
Prof. Dr. E. Erdmann***

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25.6.1986

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

A. EINLEITUNG

B. METHODIK

I. Materialien

1. Chemikalien
2. Apparate

II. Experimenteller Teil

1. Patientengut
2. Untersuchungsablauf

III. Analytischer Teil

1. Bestimmung des koronaren Blutflusses
2. Laktatbestimmung
3. Bestimmung von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin
 - a. Gewinnung der Blutproben
 - b. Hochdruckflüssigkeitschromatographie
 - c. Berechnungen
4. Statistik

C. ERGEBNISSE

I. Kinetik des Abbaus von Adenosin und Inosin im Vollblut

II. Plasmaspiegel von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin bei Patienten mit und ohne koronarer Herzkrankheit

1. Ergebnisse unter Ruhebedingungen
2. Ergebnisse nach elektrischer Vorhofstimulation

III. Beziehung zwischen Adenosinfreisetzung und koronarer Hämodynamik

IV. Beziehung zwischen Adenosin- und Laktatfreisetzung

V. Einfluß von Dipryridamol auf Koronarfluß und
Plasmaspiegel von Adenosin

- D. DISKUSSION
- E. ZUSAMMENFASSUNG
- F. LITERATURVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

Im Jahre 1963 wurde unabhängig von zwei Arbeitsgruppen berichtet, daß Adenosin vom Herzen selbst gebildet werden kann und aufgrund seiner vasodilatierenden Eigenschaft an der Regulation der Koronardurchblutung beteiligt sein könnte (GERLACH et al. 1963; BERNE 1963). Die Implikationen, die sich aus dieser sog. Adenosin-Hypothese der metabolischen Regulation der Koronardurchblutung ergaben, wurden in den vergangenen zwei Jahrzehnten von verschiedenen Arbeitsgruppen intensiv untersucht, ohne daß sich bis heute ein abschließendes Bild ergeben hätte. (BERNE 1980; FEIGL 1983).

Eine wesentliche Schwierigkeit, die Rolle des Adenosins unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen abzuschätzen, besteht darin, daß es bis jetzt kein experimentelles Verfahren gibt, das es ermöglicht, die Konzentration von Adenosin im interstitiellen Raum, d.h. in unmittelbarer Nachbarschaft der glatten Gefäßmuskulatur selbst zu messen. Dies aber ist eine wesentliche Voraussetzung, um eine verbindliche Aussage über die Rolle von Adenosin zu treffen. Lediglich indirekte Verfahren, die Bildung von Adenosin abzuschätzen, stehen zur Verfügung und alle sind mit zum Teil erheblichen Fehlern behaftet. Messungen von Adenosin im Gewebe (OLSSON 1970; SAITO et al. 1980) überschätzen die freie Konzentration dieses Nukleosids, da normalerweise bereits ein großer Teil des Säure-extrahierbaren Adenosins in proteingebundener Form vorliegt (SCHRADER et al. 1981; OLSSON et al. 1982). Um diese Schwierigkeit zu umgehen, wurden in der Vergangenheit Verfahren entwickelt, die die Freisetzung von Adenosin in das perikardiale Superfusat (RUBIO, BERNE 1969; MILLER et al. 1979) als Index für die interstitielle Konzentration heranzogen. Aber auch hier ist wegen der langen Äquilibrierungszeit zwischen interstitieller Flüssigkeit und Superperfusat die Aus-

sagekraft der Messungen umstritten. Eine weitere Möglichkeit, die Bildung von Adenosin im Herzen zu erfassen, besteht in der Bestimmung der arterio-venösen Differenz (SCHRADER et al. 1977; MANFREDI, SPARKS 1982). Da jedoch der Stoffwechsel von Adenosin im Blut außerordentlich rasch ist (KLABUNDE 1983), unterschätzen diese Messungen die tatsächliche Freisetzungsrates von Adenosin aus dem Herzen wahrscheinlich erheblich.

Hinsichtlich der Mechanismen der Adenosin-Bildung ist seit langem bekannt, daß Hypoxie und Ischaemie zu den stärksten Reizen zählen (RUBIO et al. 1974; SCHRADER et al. 1977; OLSSON et al. 1978), die zu einer verstärkten Freisetzung führen. In der ursprünglichen Formulierung der Adenosin-Hypothese wurde dementsprechend angenommen, daß der entscheidende Stimulus, der zu einer gesteigerten Adenosinbildung und damit zu einer Zunahme des Koronarflusses führt, in einer Abnahme des Partialdruckes für Sauerstoff im Herzmuskel besteht (BERNE 1963). Es wurde postuliert, daß Adenosin im Sinne eines rückgekoppelten Systems in Abhängigkeit vom PO_2 im Gewebe gebildet wird. Steigt z.B. der myokardiale Sauerstoffverbrauch an, so sinkt primär der PO_2 und das vermehrt gebildete Adenosin bewirkt dann die adaptive Zunahme des Koronarflusses, was eine Zunahme der Oxygenierung des Myokardgewebes zur Folge hat. Ein neues Gleichgewicht zwischen O_2 -Angebot und O_2 -Verbrauch stellt sich ein. Neuere Untersuchungen haben bestätigt, daß Adenosin als ein empfindlicher Parameter anzusehen ist, der den Oxygenierungsgrad des Herzens anzeigt (BARDENHEUER, SCHRADER 1985). Es ist nicht der myokardiale Sauerstoffverbrauch, d.h. der unmittelbare Energieumsatz des Herzens, der die Höhe der Adenosinbildung bestimmt, sondern das Verhältnis von Sauerstoffangebot zu Sauerstoffverbrauch.

Basierend auf tierexperimentellen Studien und Erkenntnissen wurde 1974 von Fox erstmals über klinische Studien berichtet, die die

Brauchbarkeit von Adenosin als ein empfindlicher Ischaemieparameter zum Gegenstand hatten (FOX et al. 1974). Es konnte gezeigt werden, daß bei einem Belastungs-induzierten Angina-pectoris-Anfall, Adenosin vermehrt koronarvenös freigesetzt wird. Obwohl diese Studie erstmals eine Freisetzung von Adenosin aus dem menschlichen Herzen nachweisen konnte, waren die verwendeten analytischen Methoden sehr unempfindlich und gestatteten nicht die Messung von Adenosin und seiner Abbauprodukte im Plasma unter Ruhebedingungen. In einer weiteren Studie konnte die Arbeitsgruppe um Fox außerdem zeigen, daß bei Reperfusion des menschlichen Herzens nach einer chirurgisch notwendigen Kardioplegie, erhebliche Mengen von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin im Koronarsinus nachweisbar sind (FOX et al. 1978). Andere Untersucher hingegen konnten bei einer durch Vorhofstimulation induzierten Myokardischaemie keine Unterschiede in der AV-Differenz von Adenosin feststellen, wohl aber eine signifikante Zunahme von Hypoxanthin, einem Abbauprodukt von Adenosin (REMME et al. 1977; KUGLER 1979). Die Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse der oben genannten Arbeitsgruppen sind vielschichtig. Neben Fragen des Patientengutes spielen sicherlich methodische Gesichtspunkte, wie z.B. eine rasche Probengewinnung sowie Fragen des geeigneten Nachweisverfahrens eine entscheidende Rolle.

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, an einem klinisch gut definierten Krankengut die arteriovenösen Differenzen von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin mit empfindlichen hochdruckchromatographischen Methoden zu messen und den Zusammenhang zwischen Myokardischaemie und koronarvenöser Freisetzung der genannten Purinverbindungen näher zu analysieren. Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob die Gabe von Dipyridamol, das im Tierversuch die Freisetzung von Adenosin aus dem Herzen stark erhöht (BECKER et al. 1985) und an Koronarpatienten eine Myokardischaemie provozieren kann (TAUCHERT et al. 1979), auch am Men-

schen zur Veränderung der Freisetzungsrates von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin führt. Eine wesentliche Voraussetzung für die Messung der verschiedenen Purinverbindungen war die sachgerechte Gewinnung von Blutproben mit Hilfe eines speziellen Spritzensystems, das den Stoffwechsel von Adenosin im Blut unmittelbar bei der Blutprobenentnahme unterbrechen kann.

B. METHODIK

I. MATERIALIEN

1. Chemikalien

Nukleoside, Basen, Adenosindesaminase (EC 3.5.4.4.) und Nukleosidphosphorylase (EC 2.4.2.1.) stammten von Boehringer (Mannheim, BRD), Dipyridamol von Dr. Karl Thomae GmbH (Biberach a.d. Riss, BRD). Methanol (Baker, USA) und alle sonstigen verwendeten Chemikalien (Merck, Darmstadt, BRD) waren von höchstem analytischem Reinheitsgrad. Reinstes Wasser wurde mit Hilfe eines Ionenaustauschersystems (Millipore, Bedford, USA) gewonnen. Econo-Columns (100-3i.D.) und Anionenaustauscher AG 1-X2 (Azetatform) wurden von Bio-Rad (Richmond, USA), Reversed phase-Nukleosil C-18 (Teilchengröße 7,5 μm) von Macherey-Nagel (Düren, BRD) bezogen. Plastikspritzen (2 ml und 5 ml) stammten von Becton, Dickinson (Rutherford, USA).

2. Apparate

Die chromatographische Analyse der verschiedenen Purinverbindungen wurde mit einem Hochdruckflüssigkeitschromatographen (Varian, Modell 5000, USA) durchgeführt. Die Trennung erfolgte auf selbstgepackten C-18 reversed phase-Säulen (Nukleosil, Macherey-Nagel, BRD). Das Meßsignal wurde auf einem Kompensationsschreiber (Perkin Elmer, USA) registriert.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Patientengut

Die Studien wurden an 14 Patienten (9 männliche Patienten mit einem Durchschnittsalter von 51 Jahren, 5 weibliche Patienten mit einem Durchschnittsalter von 46 Jahren) im Rahmen routinemäßiger diagnostischer Koronarangiographien in der Heidelberger Universitätsklinik mit Einverständnis der Patienten vorgenommen. Abgesehen von den in Tab. 1 aufgeführten Arzneimitteln wurde die Medikation drei Tage vor der Untersuchung abgesetzt. Es wurden zwei Gruppen mit jeweils 7 Patienten untersucht. Die erste Gruppe ("Koronargesunde") bestand aus Patienten mit angiographisch unauffälligem Koronarsystem. Diese Patienten wurden zur diagnostischen Abklärung einer koronaren Herzkrankheit überwiegend aus einer psychosomatischen Klinik überwiesen. Die zweite Gruppe ("Koronarkranke") wies eine mindestens 75 % Stenosierung einer der großen Koronararterien auf. Weitere Einzelheiten hinsichtlich des angiographischen Befundes und des Beschwerdebildes sind Tab. 1 zu entnehmen. Ein Patient (Nr. 11) wurde drei Wochen nach aortokoronarer Bypassoperation nochmals koronargiographisch untersucht. Alle Patienten hatten entsprechend den Ergebnissen der Lävokardiographie eine ausreichende linksventrikuläre Funktion.

2. Untersuchungsablauf

Die Patienten wurden vor der Herzkatheteruntersuchung mit 5000 I.E. Heparin i.v. vorbehandelt. Ventrikulographie und selektive Koronarangiographie erfolgte nach der Judkins- oder Sonestechnik. Rechte und linke Koronararterie wurden in verschiedenen Projektionen (einschließlich hemiaxialer) dargestellt. Linksventrikulärer bzw. Aortendruck sowie EKG wurden kontinuierlich registriert. Nach erfolgter Koronarangiographie wurde eine

Tab. 1: Zusammenstellung individueller Patientendaten. Koronarangiographisch unauffällige Patienten Nr. 1 bis 7, Patienten mit koronarangiographisch nachgewiesenen Stenosen Nr. 8 bis 14.

Abkürzungen: LAD: Ramus interventricularis anterior, Lcx: Ramus circumflexus, RCA: rechte Koronararterie; I: leichte, II: mittlere, III: starke pektanginöse Beschwerden- die unter Stimulation (S) bzw. nach Dipyridamol (D) aufgetreten sind; F: Herzfrequenz; P_{AO}: mittlerer Aortendruck; ST-Senkung: Senkung der ST-Strecke nach Vorhofstimulation; ISDN: Isosorbiddinitrat, NG: Nitroglycerin, β-Blö: β-Blocker, Nif.: Nifedipin

PATIENT	ALTER/ GESCHLECHT	ERKRANKUNG	MEDIKATION	BETROFF. GEFÄßS	F (min ⁻¹)	P _{AO} (mmHg)	SCHMERZ	ST (cm)
1-R.H.	39 w	Angina pect.	ISDN, NG	./.	70	130	I(S _I ,D)	0.1
2-K.M.	58 m	komp. Herzinsuffizienz	./.	./.	100	90	./.	./.
3-A.C.	31 w	Angina pect.	./.	./.	71	105	./.	./.
4-R.R.	75 w	komp. Herzinsuffizienz	./.	./.	75	120	./.	./.
5-B.A.	29 m	Angina pect.	./.	./.	84	95	./.	./.
6-B.R.	33 w	Vorhofseptumdefekt (klein)	./.	./.	85	85	./.	./.
7-S.M.	50 w	Angina pect.	./.	./.	74	120	I(S _{II})	./.
8-H.H.	50 m	Zst. n. Vorderwandinfarkt	ISDN, NG	LAD	72	100	./.	0.1
9-E.K.	50 m	Zst. n. Vorderwandinfarkt	ISDN, NG	Lcx, RCA	85	90	./.	./.
10-G.H.	57 m	Angina pect.	ISDN	LAD, RCA	57	100	II(S _I ,D)	0.2
11aL.E.	48 m	Zst. n. VW und HW-Infarkt	ISDN, Nif.	LAD, RCA	82	115	II(S _I)	0.2
11bL.E.	48 m	nach Bypass-Operation	./.	LAD-Bypass	103	110	./.	./.
12-A.F.	60 m	Angina pect., Ruhedyspnoe	ISDN, β-Bl.	LAD	90	90	II(D)III(S _I)	0.1
13-B.H.	54 m	Angina pect.	ISDN, NG	LAD	85	105	III(S _I)	0.2
14-W.G.	56 m	Zst. n. Vorderwandinfarkt	NG	LAD	64	110	II(S _I)	./.

Schrittmachersonde im rechten Vorhof positioniert. Anschließend wurde zusätzlich ein Katheter in den Sinus coronarius gelegt und ca. drei Zentimeter weit hinter das Ostium vorgeschoben. Die Abnahme arteriellen Blutes erfolgte über einen in der Aorta abdominalis kurz unterhalb des Diaphragmas liegenden Katheter. Die beiden erwähnten Herzkatheter (Multipurpose - Katheter, F 7, Cordis) waren identisch mit einem jeweiligen Totraumvolumen von 0,6 ml.

Nachdem alle Katheter gelegt waren, wurde die Untersuchung nach dem in Abb. 1 angegebenen Schema durchgeführt. Nach Abnahme arterieller und koronarvenöser Kontrollproben (K_I) wurden beide Gruppen mit einer Frequenz von 120/min über 7 Minuten stimuliert (S_I). Daran anschließend wurde bei der Gruppe der "Koronargesunden" die Frequenz weiter auf 150/min erhöht (S_{II}). 8 bis 10 Minuten nach Ende der Stimulation wurden erneut Kontrollproben (K_{II}) abgenommen. Danach wurden über den im Sinus coronarius liegenden Katheter 0,5 mg Dipyridamol/kg Kg über 10 Minuten infundiert und zwei bis drei Minuten später erneut Blutproben (D) entnommen.

III. ANALYTISCHER TEIL

1. Bestimmung des koronaren Blutflusses

Der koronare Blutfluß wurde in Ruhe, unter elektrischer Vorhofstimulation (Frequenz 120/min) und nach Dipyridamolgabe mittels der Argonmethode (TAUCHERT et al., 1972) bestimmt. Die Messung von Argon erfolgte mit gaschromatographischen Techniken, nachdem vorher der Sauerstoff im Blut durch eine speziell entwickelte Extraktionskammer mittels Natriumdithionit entzogen wurde. Der Sauerstoffgehalt wurde mit einem Lex O₂-Con (Lexington Instruments, USA) gemessen.

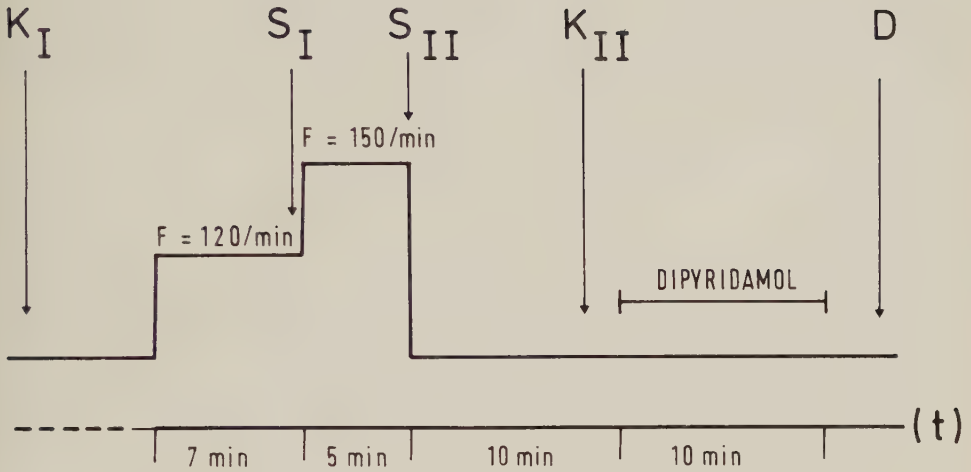
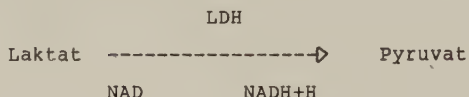


Abb. 1: Schematische Darstellung des Untersuchungsablaufs.
 K_I : Erste Kontrollprobe unter Ruhebedingungen,
 K_{II} : Zweite Kontrollprobe nach erfolgter Stimulation,
 S_I , S_{II} : Proben bei elektrischer Vorhofstimulation von 120 bzw. 150/min,
 D : Probe nach Gabe von Dipyridamol (0,5 mg/kg Kg über 10 Minuten)

2. Laktatbestimmung

Zur Bestimmung der arteriellen und venösen Laktatspiegel kam ein Test-Kit der Fa. Boehringer zur Anwendung. Das Prinzip der Laktatbestimmung beruht auf folgender enzymatischer Reaktion:



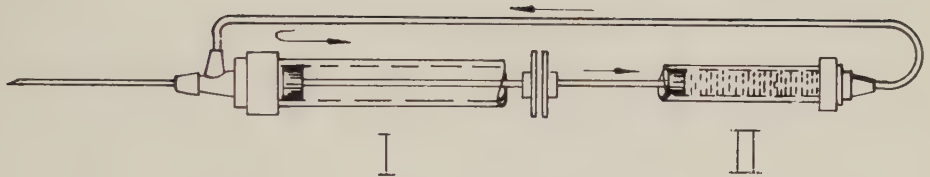
Veränderungen der Extinktion von NADH, die der Menge von Laktat proportional ist, wurden bei 340 nm in einem Spektralphotometer bestimmt (HADJIVASSILIOU, RIEDER, 1968).

3. Bestimmung von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin

a. Gewinnung der Blutproben.

Unmittelbar vor jeder Blutabnahme wurde über den entsprechenden Katheter etwa 2 ml Blut entnommen und verworfen. Die Blutentnahme erfolgte über ein speziell entwickeltes Spritzensystem (Abb. 2). Eine 5 ml - Sammelspritze wurde mit einer 2 ml - Spritze mechanisch gekoppelt, die 2 ml einer eisgekühlten Stopplösung (mmol/L: Dipyridamol, 0,2 - NaCl, 154 - KCL, 5,6 - NaHCO₃, 5,9 - Glucose, 5,6 - CaCl₂, 2,15 - NaH₂PO₄, 0,17) enthielt. Durch Ziehen am Kolben der Sammelspritze wird eine sofortige Durchmischung von aspiriertem Blut und Stopplösung entsprechend einem Verhältnis 1 : 1 erreicht. Das in der Sammelspritze gewonnene Blut wurde sofort in einer Eppendorfzentrifuge (8000 x g) für zwei Minuten zentrifugiert. Zwei Milliliter des Überstandes wurden abgenommen, mit 200 µl einer 60 % Perchlorsäure deproteinisiert und zur Entfernung des Eiweißpräzipitats erneut zentrifugiert (8000 x g,

A



B

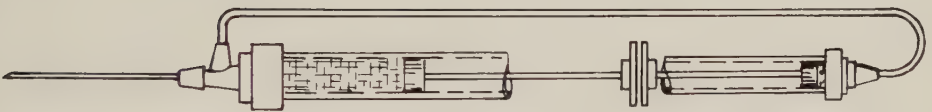


Abb. 2: Schematische Darstellung des Spritzensystems zur Gewinnung von Blutproben.

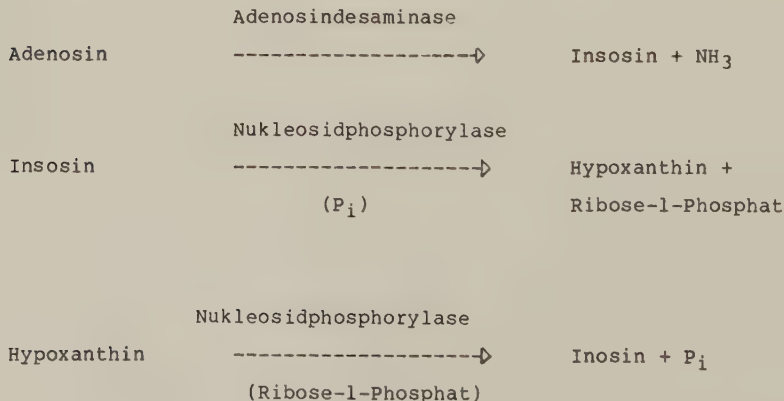
Die Sammelspritze (I) ist hierbei mechanisch mit einer zweiten Spritze (II) gekoppelt, die zwei Milliliter einer dipyridamolhaltigen Lösung enthält (Zusammensetzung der Lösung siehe Methodik). Beide Spritzen sind so dimensioniert, daß ein Aufziehen der Sammelspritze zu einer sofortigen Mischung von aspiriertem Blut und Stopplösung im Verhältnis 1 : 1 führt. Der obere Teil der Abbildung (A) zeigt das Spritzensystem vor, der untere Teil der Abbildung (B) nach Blutabnahme.

2 min). Die so gewonnenen Proben wurden bis zur weiteren Aufbereitung tiefgefroren. Zur Neutralisierung des Perchlorsäure-Extrakts wurden jeweils 1,5 ml über eine mit einem Anionenaustauscher (AG1-X2) gefüllte Säule, die mit Wasser äquilibriert war, geschickt. Die Elution der Purine erfolgte mit 9 ml einer 5 mmol/l Essigsäure.

b. Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Die lyophilisierte Probe wurde in 250 μ l Wasser aufgenommen, wovon 200 μ l auf eine C₁₈-Säule, die mit Wasser äquilibriert war, injiziert wurden (Flußrate 1 ml/min). Nach Probenaufgabe wurde ein linear ansteigender Methanolgradient gestartet, wobei nach 25 Minuten 23 % Methanol erreicht wurden.

Die Adenosin, Inosin und Hypoxanthin enthaltenden Fraktionen (I, II, III) wurden gesammelt und evaporiert. Zur genauen Identifizierung und Quantifizierung der verschiedenen Purinverbindungen wurde für jede Probe ein enzymatischer Peak-Shift durchgeführt (Abb. 3). Die hierbei beteiligten enzymatischen Reaktionen sind im folgenden kurz dargestellt.



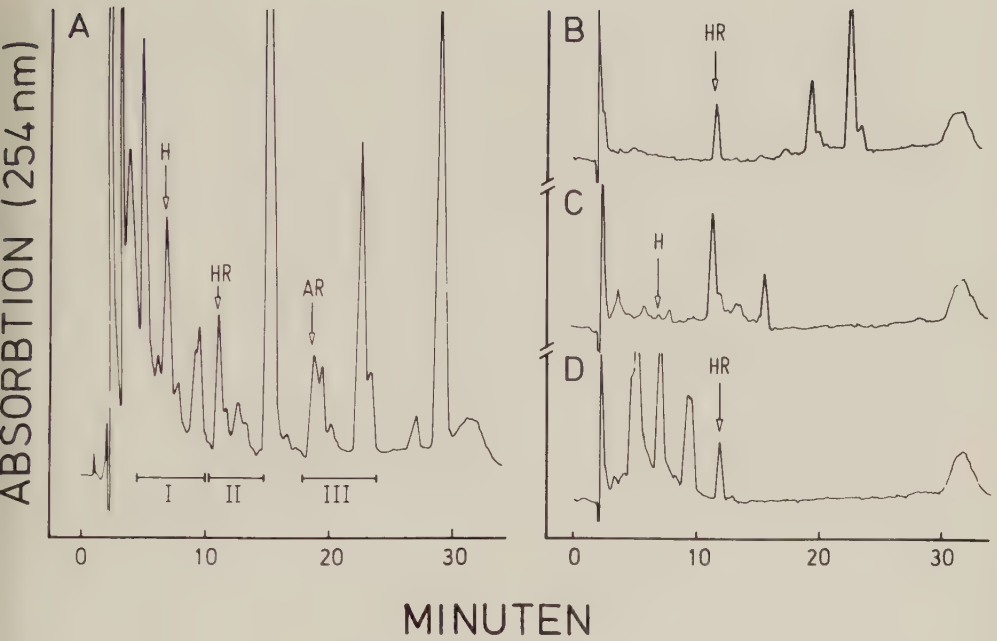


Abb. 3: Repräsentatives Chromatogramm eines Perchlorsäure-Extraktes aus menschlichem Plasma.

A: Chromatogramm, in dem Retentionszeiten von Adenosin (AR), Inosin (HR) und Hypoxanthin (H) markiert sind. Die Fraktionen I, II und III wurden gesammelt, enzymatisch peak-geschiftet (siehe analytischer Teil) und rechromatographiert.

B: Chromatogramm von Fraktion III nach enzymatischer Umwandlung von Adenosin zu Inosin.

C: Chromatogramm von Fraktion II nach enzymatischer Umwandlung von Inosin zu Hypoxanthin.

D: Chromatogramm von Fraktion I nach enzymatischer Umwandlung von Hypoxanthin zu Inosin.

Die evaporierten Proben wurden entweder in 400 µl Wasser (Adenosin-Proben), 400 µl 2,5 mM Phosphatpuffer pH 7,4 (Inosin-Proben) oder in 400 µl 20 mM Ribose-1-Phosphat-Lösung (Hypoxanthin-Proben) aufgenommen. Die enzymatische Umwandlung der entsprechenden Purinverbindungen erfolgte durch Zugabe von 5 µl Adenosindesaminase ($3,3 \times 10^5$ U/L) bzw. 5 µl Nukleosidphosphorylase (2×10^4 U/L). Nach Inkubation für 30 Minuten bei 37°C wurden die Proben für zwei Minuten auf 100°C erhitzt, lyophilisiert und in 250 µl Wasser aufgenommen. 200 µl wurden dann wie oben beschrieben auf einer C₁₈-Säule rechromatographiert

c. Berechnung

Die Plasmaspiegel der einzelnen Purine wurden entsprechend nachfolgender Formel berechnet:

$$c = \frac{m \times p_p \times i}{p_s \times d}$$

c = Konzentration der Probe (µMol Plasma)

m = Menge des injizierten Standards (µmoles)

p_p = Peakhöhe von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin
in der analysierten Probe (cm)

i = Verdünnungsfaktor unter den genannten Bedingungen
(i = 0,64)

p_s = Peakhöhe des jeweiligen Standards (cm)

d = Plasmavolumen (Liter)

$$1,43 \times 10^{-3} \times (1 - Hk)$$

d =

$$(2 - Hk)$$

(Hk = Hämatokrit)

Die Recovery von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin am Ende der Analysenschritte betrug $88 \pm 1,76 \%$, $67 \pm 0,73 \%$ und $73 \pm 1,07 \%$ ($n = 5$; $\bar{x} \pm \text{SEM}$). Die im Text angegebenen Plasmawerte von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin wurden nicht korrigiert. Die gesamten biochemischen Untersuchungen wurden im Physiologischen Institut der Universität München vorgenommen.

4. Statistik

Nach Berechnung der Mittelwerte und der mittleren Fehler des Mittelwertes (SEM) wurden die jeweiligen Mittelwerte von Kontroll- und Versuchsserien mittels des t-Testes nach Student verglichen. Der ermittelte t-Wert diente zur Bestimmung des p-Wertes. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde als signifikant angesehen.

C. ERGEBNISSE

I. KINETIK DES ABBAUS VON ADENOSIN UND INOSIN IM VOLLBLUT

Der Abbau von Adenosin im Blut erfolgt bekanntlich außerordentlich rasch, im wesentlichen durch Aufnahme in die Erythrozyten und enzymatischen Abbau zu Inosin (SCHRADER et al. 1972; KLABUNDE et al. 1979). Die Bestimmung der tatsächlichen Adenosinkonzentration im Plasma setzt daher die Verwendung von Methoden voraus, die es gestatten, den Stoffwechsel von Adenosin unmittelbar bei der Blutentnahme wirkungsvoll zu hemmen.

Zu diesem Zweck wurde das in Abb. 2 wiedergegebene Spritzensystem entwickelt. Durch die mechanische Kopplung einer "Sammelspritze" (I) mit einer Spritze, die mit einer Dipyridamol-haltigen Stopplösung gefüllt war (II), ist es möglich, das aspirierte Blut unmittelbar bei der Entnahme mit der Stopplösung (Zusammensetzung siehe Methodik) zu mischen. In einer ersten Versuchsreihe wurde die Kinetik des Abbaus von Adenosin und Inosin durch Zugabe von radioaktiv markiertem Adenosin bzw. Inosin untersucht. Wie aus dem oberen Teil der in Abb. 4 wiedergegebenen Ergebnisse zu ersehen ist, ist bereits nach 10 Sekunden (erster Meßwert) der größte Teil des zugegebenen Adenosins nicht mehr nachweisbar. Vergleichsweise erfolgt der Abbau von Inosin deutlich langsamer: nach 5 Minuten lassen sich noch 80% des zugegebenen Inosins im Plasma nachweisen.

Der untere Teil der Abb. 4 zeigt den Einfluß von Dipyridamol in einer Endkonzentration von 0,2 mM. Man sieht, daß Dipyridamol insbesondere den Abbau von Adenosin wirkungsvoll hemmt. Weniger ausgeprägt ist der Einfluß von Dipyridamol auf die Verschwinderate von Inosin. Diese Ergebnisse dokumentieren, daß

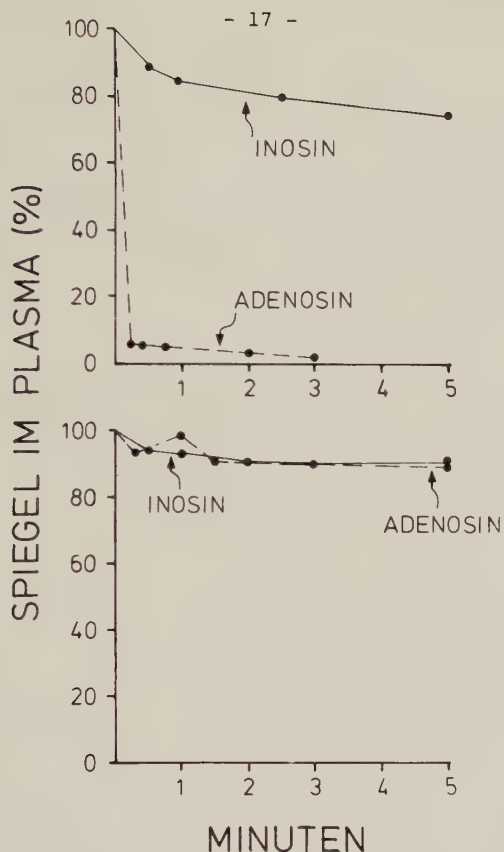


Abb. 4. Abbau von Adenosin und Inosin im Vollblut ohne (obere Abbildung) und nach Zugabe von 0,2 mM Dipyridamol (untere Abbildung).

Aus der Armvene einer gesunden Versuchsperson wurde mittels des in Abb. 2 dargestellten Spritzensystems Blut entnommen. Die Abnahme der Plasmapurinspiegel wurde durch Zugabe von ($8\text{-}^{14}\text{C}$)Adenosin (spezifische Aktivität 58 mCi/mmol, 10^5 cpm pro Röhrchen) bzw. ($8\text{-}^{14}\text{C}$) Inosin (spezifische Aktivität 50 mCi/mmol, 2×10^5 cpm pro Röhrchen) zu Spritze II markiert (siehe Abb. 2). Nach der Blutentnahme wurde das Blut entsprechend den angegebenen Zeiten inkubiert. Probenaufbereitung und Chromatographie wurden wie im Methodikteil beschrieben durchgeführt.

durch Zumischung von Dipyridamol mit Hilfe des speziell entwickelten Spritzensystems die tatsächlichen Plasmakonzentrationen von Adenosin und Inosin erfaßt werden können.

II. PLASMASPIEGEL VON ADENOSIN, INOSIN UND HYPOXANTHIN BEI PATIENTEN MIT UND OHNE KORONARE HERZKRANKHEIT

1. Ergebnisse unter Ruhebedingungen

In Tab. 1 sind neben Angaben zur Grundkrankheit, Alter und Geschlecht die Daten für Herzfrequenz und mittleren Aortendruck für alle untersuchten Patienten zusammengefaßt. Unter Ruhebedingungen ergab sich kein Unterschied der gemessenen hämodynamischen Parameter zwischen angiographisch unauffälligen Patienten ("Koronargesunde") und Patienten bei denen eine Ein- oder Mehrgefäßerkrankung vorlag ("Koronarkranke"). Die im Koronarsinus und in der Aorta bestimmten venösen und arteriellen Plasmaspiegel von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin sind in Abb. 5 für jeden Patienten einzeln dargestellt. An koronargesunden Patienten betrug der mittlere arterielle Plasmaspiegel von Adenosin $0,16 \pm 0,03 \mu\text{M}$, venös fand sich ein Wert von $0,16 \pm 0,02 \mu\text{M}$. Geringfügig höher lagen die Werte für Inosin: arteriell $0,22 \pm 0,07 \mu\text{M}$ und koronarvenös $0,21 \pm 0,06 \mu\text{M}$. Hypoxanthin zeigte erhebliche individuelle Schwankungen; der arterielle Mittelwert lag bei $0,59 \pm 0,13 \mu\text{M}$ und war nicht signifikant vom koronarvenösen Wert ($0,56 \pm 0,10 \mu\text{M}$) verschieden.

An koronarkranken Patienten lagen die Plasmaspiegel für Adenosin mit $0,35 \pm 0,08 \mu\text{M}$ arteriell und $0,28 \pm 0,08 \mu\text{M}$ koronarvenös etwa doppelt so hoch wie die entsprechenden Werte bei koronargesunden

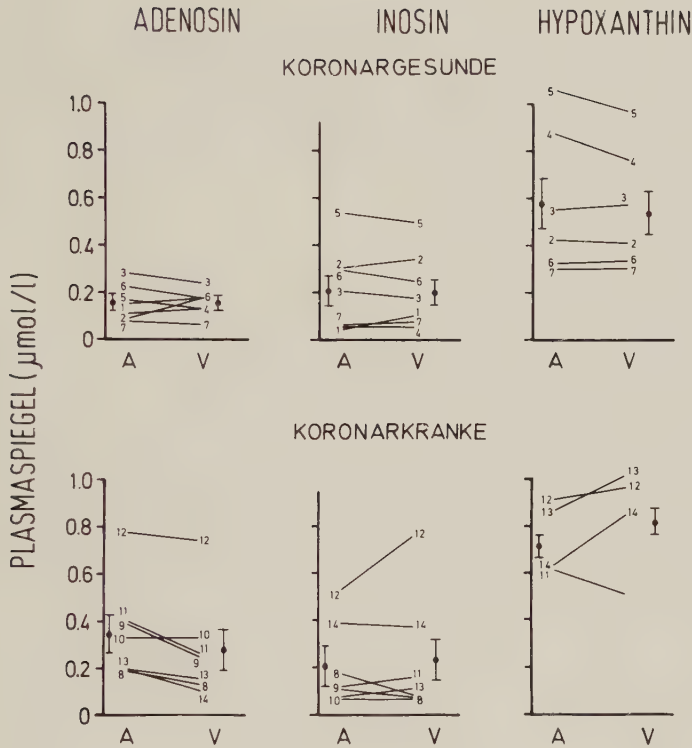


Abb. 5: Arterielle (A) und koronarvenöse (V) Plasmaspiegel von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin koronargesunder und koronarkranker Patienten unter Ruhebedingungen ($\bar{x} \pm \text{SEM}$).

Zur Gruppe der "Koronargesunden" zählen Patienten, die koronarangiographisch unauffällig waren. Bei den "Koronarkranken" lag eine Ein- oder Mehrgefäßerkrankung vor. Details der angiographisch erhobenen Befunde sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Patienten. Die statistische Analyse der Daten für Adenosin ergab, daß sowohl die arteriellen, als auch die venösen Plasmaspiegel bei Koronarkranken gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant erhöht waren (Abb. 6). Kein Unterschied fand sich hingegen für Inosin und Hypoxanthin zwischen beiden Patientengruppen.

2. Ergebnisse nach elektrischer Vorhofstimulation

Entsprechend dem in Abb. 1 wiedergegebenen Untersuchungsprotokoll wurden alle Patienten nach Abnahme der arteriellen und venösen Kontrollproben mit einer Frequenz von 120/min für einen Zeitraum von 7 Minuten mit Hilfe einer im rechten Vorhof liegenden Schrittmachersonde stimuliert. Daran anschließend wurde bei der Gruppe der "Koronargesunden" die Frequenz auf 150/min über 5 Minuten angehoben. Bei zwei Patienten konnte das Stimulationsprotokoll nicht vollständig durchgeführt werden. Abbruchkriterien waren einmal das Auftreten eines AV-Blockes zweiten Grades (Patient 2) bzw. das Auftreten ausgeprägter pectanginöser Beschwerden (Patient 12).

Aus den in Abb. 7 und 8 wiedergegebenen Daten ist ersichtlich, daß bei koronarangiographisch unauffälligen Patienten ("Koronargesunde") eine Frequenzsteigerung auf 120 bzw. 150/min zu keiner Veränderung der arteriovenösen Differenz von Adenosin führte.

Ein anderes Bild ergab sich bei der Gruppe der "Koronarkranken". Eine Vorhofstimulation mit 120/min führte hier zu einer signifikanten Zunahme der Adenosinfreisetzung (Abb. 8). Die unter Kontrollbedingungen beobachtete Nettoaufnahme von Adenosin schlägt jetzt in eine Nettoproduktion um (Abb. 8). Die gemessene Erhöhung der Adenosinfreisetzung beruht ausschließlich auf einer Zunahme der koronarvenösen Spiegel; die arteriellen Plasmaspiegel von Adenosin änderten sich durch Stimulation nicht.

Die unter den genannten Stimulationsbedingungen gemessenen Werte



Abb. 6: Unterschiede im Plasmaspiegel von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin zwischen koronargesunden und koronarkranken Patienten. Die Daten sind Mittelwerte der in Abb. 5 dargestellten Einzelwerte. ("Koronargesunde" versus "Koronarkranke" - x: $p < 0,025$, xx: $p < 0,0125$).

ADENOSIN

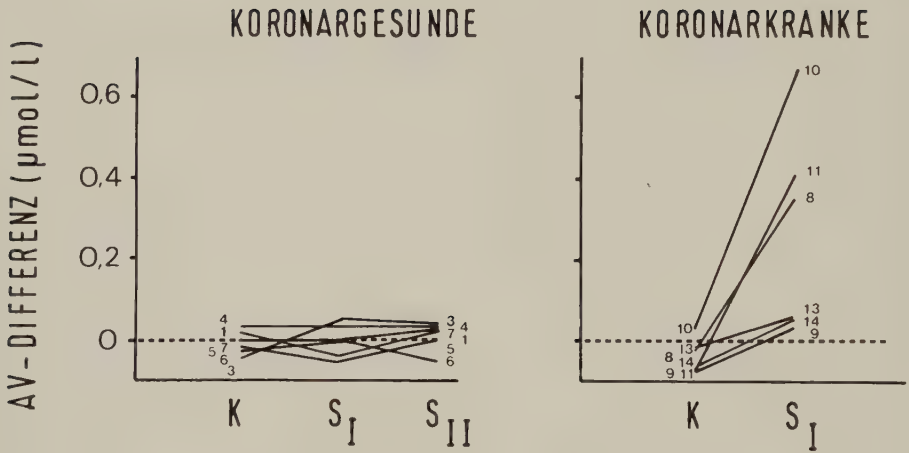


Abb. 7: Einfluß einer Vorhofstimulation (S_I 120/min; S_{II} 150/min) auf die AV-Differenzen von Adenosin bei individueller Darstellung der Einzelwerte. Die Nummern entsprechend den in Tab. 1 aufgeführten Patienten.

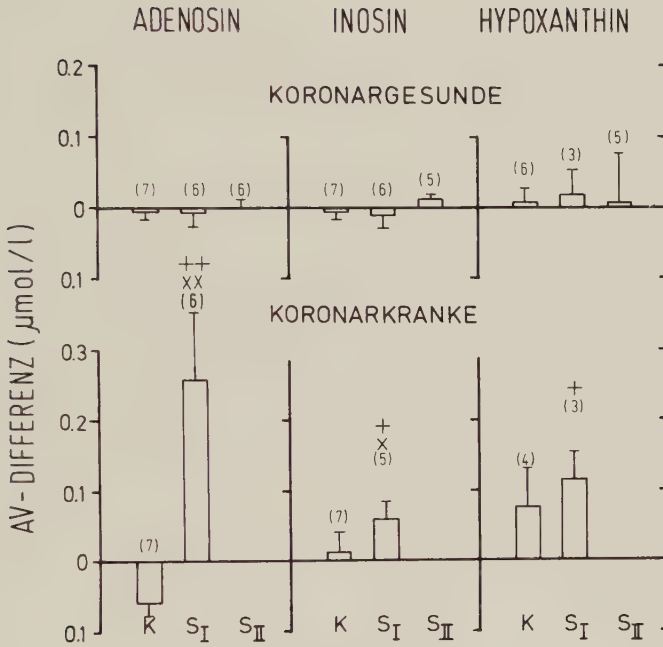


Abb. 8: Änderung der AV-Differenzen von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin unter Einfluß einer Vorhofstimulation (SI 120/min; SII 150/min).
(Kontrolle versus Stimulation - x: $p < 0,025$, xx: $p < 0,0125$; "Koronargesunde" versus "Koronarkranke" - +: $p < 0,05$, ++: $p < 0,025$).

für Inosin und Hypoxanthin zeigen bei "Koronargesunden" keine Abweichung von den entsprechenden Ruhewerten. Lediglich bei den "Koronarkranken" kam es zu einer signifikanten Zunahme der arteriovenösen Differenz von Inosin (Abb. 8). Die Werte für Hypoxanthin blieben im wesentlichen unverändert.

Bei Patient Nr. 11 wurde im Anschluß an die Herzkatheteruntersuchung eine Bypassoperation durchgeführt. Drei Wochen nach der Operation erfolgt eine erneute Katheteruntersuchung. Vor der Operation zeigte dieser Patient bei elektrischer Vorhofstimulation eine ausgeprägte Adenosinfreisetzung (Abb. 7, Tab. 2). Nach erfolgreicher Bypassoperation, dokumentiert durch eine deutliche Steigerung der Koronarreserve, war die Stimulations-bedingte Adenosinfreisetzung deutlich vermindert (Tab. 2).

III. BEZIEHUNG ZWISCHEN ADENOSINFREISETZUNG UND KORONARER HÄMODYNAMIK

Bei sieben Patienten (siehe Tab. 3) wurden zusätzlich zu den Messungen der verschiedenen Purinverbindungen der koronare Blutfluß mit der Argonmethode bestimmt. Die Messungen des Koronarflusses erfolgten unter Ruhebedingungen und nach Vorhofstimulation mit 120/min. Wie aus den in Tab. 3 wiedergegebenen Daten ersichtlich ist, führt bei koronarkranken Patienten eine Vorhofstimulation zu einer Erhöhung des koronaren Blutflusses im Mittel von 70 auf 88 ml/min/100 g. Der myokardiale Sauerstoffverbrauch steigt unter diesen Bedingungen von 8.4 auf 10.2 ml/min/100 g an.

Der Zusammenhang zwischen der durch Stimulation induzierten

Tab. 2: Vergleich arterieller (A) und koronarvenöser (V) Plasmaspiegel von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin bei Patient Nr. 11 vor und nach Bypassoperation unter Kontrollbedingungen (Kontr.), Vorhofstimulation auf 120/min (Stim.) und nach Dipyridamolgabe (Dip.).

VOR BYPASSOPERATION				NACH BYPASSOPERATION			
	Kontr.	Stim.	Dip.	Kontr.	Stim.	Dip.	
KORONARER BLUTFLUSS (ml/min/100g)	80	99	182	75	100	364	
ADENOSIN							
A	0,40	0,38	0,36	0,42	0,27	0,45	
V	0,27	0,80	0,45	0,36	0,40	0,47	
INOSIN							
A	0,12	0,14	0,40	0,29	0,33	0,49	
V	0,16	0,18	0,58	0,27	0,69	0,71	
HYPOXANTHIN							
A	0,61	0,63	0,38	0,50	0,74	0,13	
V	0,51	0,78	0,41	0,26	0,27	0,11	

Tab. 3: Einfluß einer Vorhofstimulation (S) und Dipyridamol (D) auf die arterielle (A) und koronarvenöse (V) Sauerstoffsättigung, den koronaren Blutfluß und den myokardialen Sauerstoffverbrauch ($\dot{MVO}_2$).
Stimulationsfrequenz 120/min, Dipyridamol: 0,5 mg/kg Kg (weitere Details siehe Methodik), K: Kontrolle.

PATIENT	SAUERSTOFFSÄTTIGUNG				KORONARFLUSS				MVO ₂		
	A	V _K	V _S	V _D	K	S	D	K	S	D	
1	93	28	28	78	84	128	411	10,4	15,9	11,9	
7	97	18	17	47	101	123	266	14,2	17,5	14,8	
8	95	38	38	52	72	75	85	7,6	8,2	6,8	
9	94	30	31	69	58	106	167	7,2	12,9	8,2	
10	95	29	39	40	51	71	133	6,8	8,1	14,9	
11a	89	29	30	67	80	99	182	9,4	11,5	7,8	
11b	92	34	36	48	75	100	364	8,3	10,7	30,5	
12	96	29	-	71	91	-	263	10,9	-	11,8	
$\bar{x} \pm \text{SEM}$	94 $\pm$ 1	31 $\pm$ 2	34 $\pm$ 2	60 $\pm$ 6	70 $\pm$ 7	88 $\pm$ 7	166 $\pm$ 29	8,4 $\pm$ 0,8	10,2 $\pm$ 1,2	9,9 $\pm$ 1,5	

Änderung des koronaren Blutflusses und der koronarvenösen Freisetzung von Adenosin und Inosin ist in Abb. 9 dargestellt. Offensichtlich besteht hier kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Koronarfluß und der Freisetzung beider Purinverbindungen. Auffällig ist jedoch, daß bei der Mehrzahl koronarkranker Patienten bereits geringfügige Veränderungen des koronaren Blutflusses von einer deutlichen Freisetzung von Adenosin begleitet sind. Ein prinzipiell gleiches Bild ergibt sich, wenn die Freisetzung von Adenosin in Beziehung zum myokardialen Sauerstoffverbrauch gesetzt wird (Abb. 10).

IV. BEZIEHUNG ZWISCHEN ADENOSIN UND LAKTATFREISETZUNG

An einigen Patienten wurden parallel mit der Bestimmung der verschiedenen Purinverbindungen arterielle und koronarvenöse Plasmaspiegel von Laktat analysiert (Abb. 11). In dem untersuchten Patientenkollektiv kam es weder bei "Koronargesunden" noch bei "Koronarkranken" durch Vorhofstimulation auf 120/min zu einer signifikanten Veränderung der myokardialen Laktatextraktion. Entsprechend zeigt eine Gegenüberstellung der arteriovenösen Differenzen von Adenosin und Laktat kein einheitliches Bild (Abb. 12). Zwei koronargesunde Patienten (Patient 6 und 7) zeigen eine Abnahme der Laktatextraktion ohne Veränderung der Adenosinfreisetzung. Auf der anderen Seite kommt es nur bei zwei koronarkranken Patienten (Patient 10 und 11) parallel mit der Zunahme der Adenosinfreisetzung zu gleichsinnigen Änderungen der Laktatfreisetzung. Bei drei Patienten (8, 9 und 14) ist die vermehrte Adenosinbildung von einer Zunahme der Laktatextraktion begleitet.

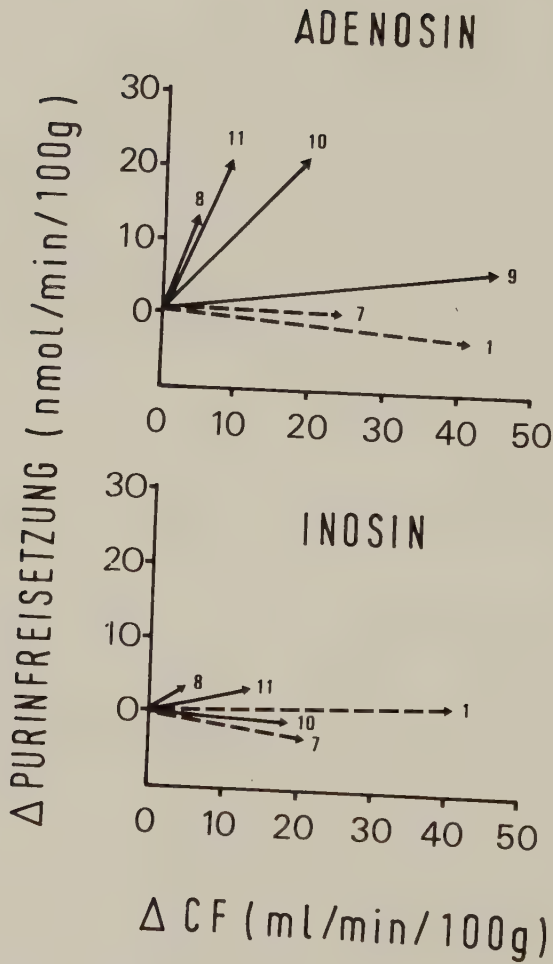


Abb. 9: Beziehung zwischen Koronarfluß und Adenosinfreisetzung nach Vorhofstimulation auf 120/min. Die Auftragung erfolgte für jeden analysierten Patienten in vektorieller Darstellung. (Durchgehende Linien entsprechen den "Koronarkranken", unterbrochene den "Koronargesunden").

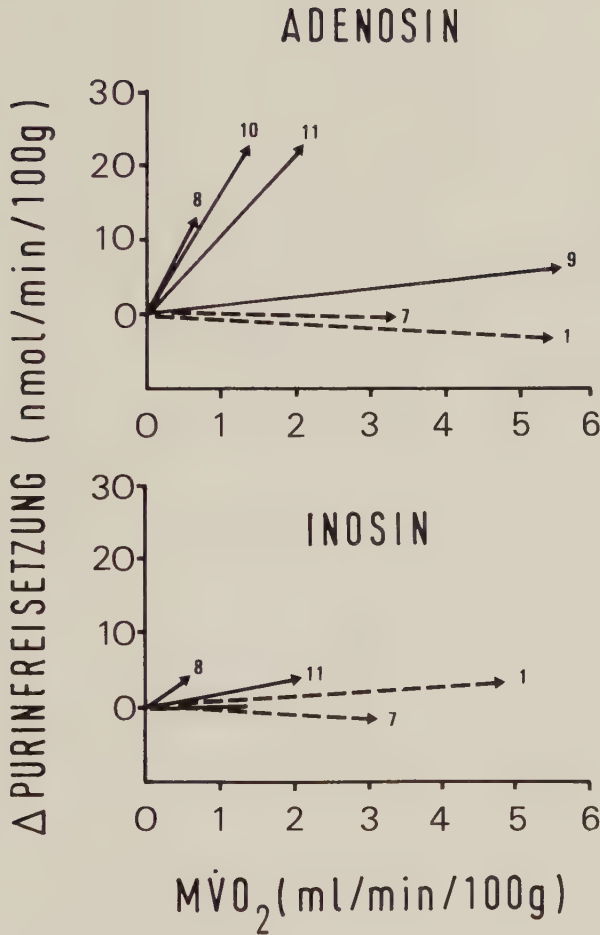


Abb. 10: Beziehung zwischen myokardialen Sauerstoffverbrauch und Adenosin- und Inosinfreisetzung nach Vorhofstimulation auf 120/min. Die Auftragung erfolgte für jeden analysierten Patienten in vektorieller Darstellung. (Durchgehende Linien entsprechen den "Koronarkranken", unterbrochene "Koronargesunden").

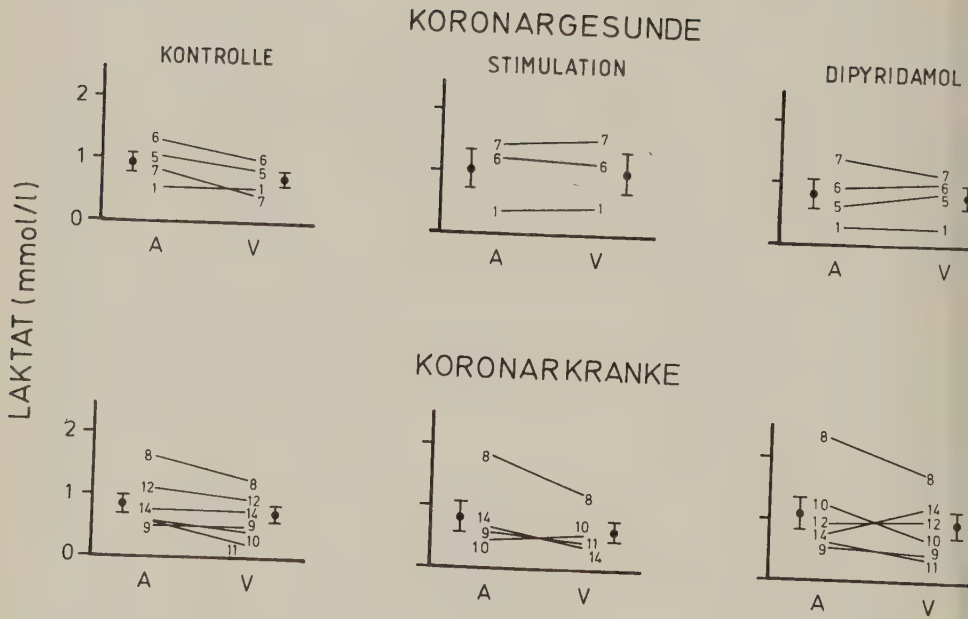


Abb. 11: Arterielle und venöse Plasmalaktatspiegel koronargesunder und koronarkranker Patienten unter Ruhebedingungen (K), nach Vorhofstimulation (S) mit 120/min sowie nach Gabe von Dipyridamol (0,5 mg/kg KG) ($\bar{x} \pm \text{SEM}$).

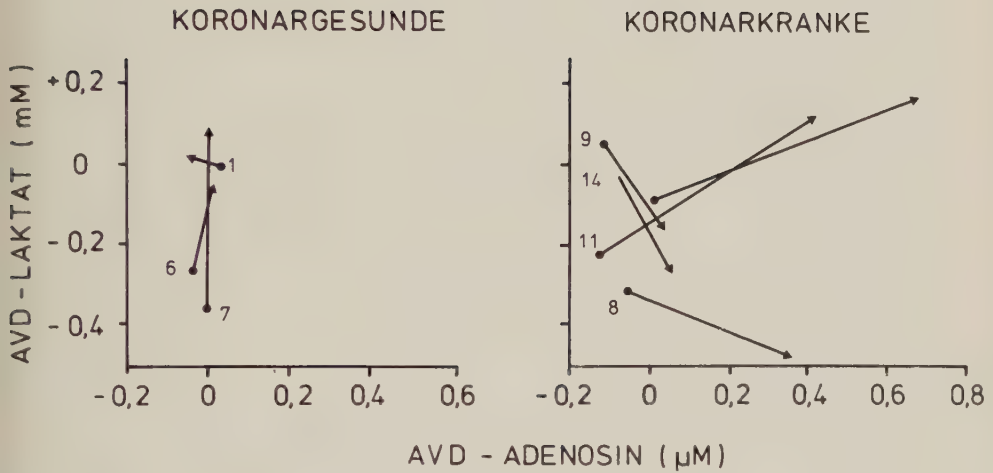


Abb. 12: Beziehung zwischen arteriovenösen Differenzen von Adenosin und Laktat bei "Koronargesunden" und "Koronarkranken".
Die Richtung des Vektors gibt die Veränderung an, die sich ausgehend von Ruhewerte nach einer Vorhofstimulation auf 120/min einstellt.

V. EINFLUß VON DIPYRIDAMOL AUF KORONARFLUSS UND PLASMASPIEGEL VON ADENOSIN

Entsprechend dem in Abb. 1 wiedergegebenen Protokoll wurde nach Vorhofstimulation und einer erneuten Kontrollperiode Dipyridamol über den koronarvenös liegenden Katheter über 10 Minuten mit ca. 3 mg pro Minute infundiert. Bei einem Patienten der Kontrollgruppe (Patient 1) und zwei Patienten aus der Gruppe der "Koronarkranken" (Patient 10 und 12) kam es bei der Gabe von Dipyridamol zu leichten pectanginösen Beschwerden, die jedoch keinen Abbruch des Untersuchungsprotokolles erforderlich machten. Zwei bis drei Minuten nach Ende der Dipyridamolgabe wurde erneut der koronare Blutfluß mit der Argonmethode gemessen und arterielle und koronarvenöse Proben zur Bestimmung von Laktat, Adenosin, Inosin und Hypoxanthin gewonnen.

Dipyridamol führte bei koronarkranken Patienten zu einer deutlichen Steigerung des Koronarflusses im Mittel von 70 auf 166 ml/min/100 g (Tab. 3). Dipyridamol hatte keinen Einfluß auf die arteriovenöse Differenz von Laktat (Abb. 11).

Der Einfluß von Dipyridamol auf die Plasmaspiegel von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin koronargesunder und koronarkranker Patienten ist in Abb. 13 zusammengefaßt. An "Koronargesunden" führt Dipyridamol zu einer Erhöhung des arteriellen und venösen Plasmaspiegels um das Zweifache, ohne daß sich die arteriovenöse Differenz dieses Nukleosids verändert. Ähnliche Ergebnisse fanden sich für Inosin (Abb. 13).

Prinzipiell gleiche Befunde ergaben sich bei koronarkranken Patienten. Auffallend ist hier, daß die Differenz zwischen koronarvenösen und arteriellen Adenosin- und Inosinwerten größer ist

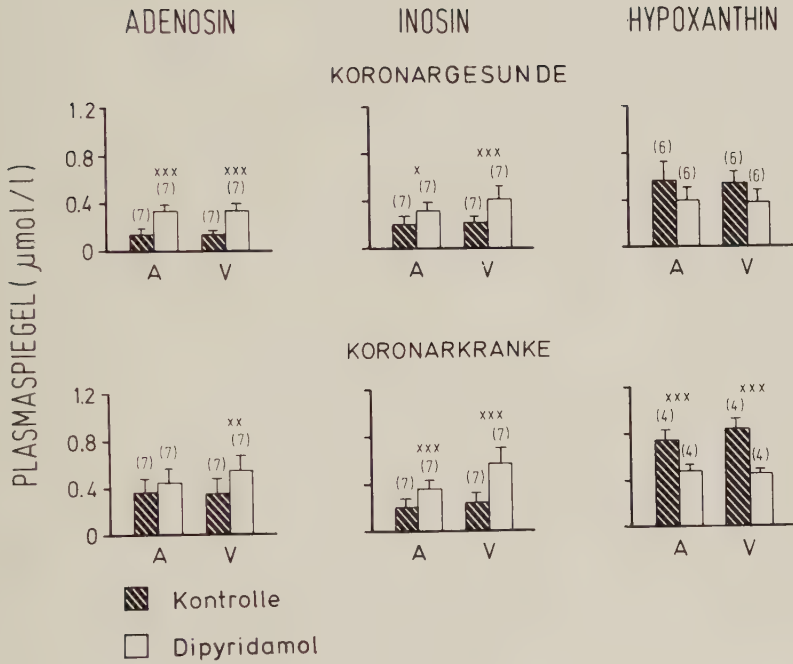


Abb. 13: Einfluß von Dipyridamol (0,5 mg/kg Kg in 10 Minuten) auf die Plasmaspiegel von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin koronargesunder und koronarkranker Patienten. (x: $p < 0,05$; xx: $p < 0,025$; xxx: $p < 0,0125$ - Kontrolle versus Stimulation).

als die entsprechenden Werte bei "Koronargesunden". Überraschenderweise kam es unter Dipyridamol in beiden Patientengruppen zu einer deutlichen Abnahme der arteriellen und venösen Spiegel von Hypoxanthin (Abb. 13). Im Falle der koronarkranken Patienten war diese Abnahme von Hypoxanthin signifikant.

D. DISKUSSION

Das wesentliche Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen betrifft den Befund, daß nur Patienten mit einer angiographisch dokumentierten koronaren Herzkrankheit bei Vorhofstimulation vermehrt Adenosin koronarvenös freisetzen. Patienten, die keine arteriosklerotischen Lumeneinengungen an den großen Koronarästen aufwiesen, zeigten selbst bei Frequenzsteigerungen bis auf 150/min keine Veränderungen der Freisetzungsrates von Adenosin. Diese Ergebnisse bestätigen und erweitern die zuerst von Fox gemachte Beobachtung, daß eine Belastungs-induzierte Angina pectoris mit einer gesteigerten Bildung von Adenosin einhergeht (FOX et al. 1974).

Vergleicht man die klinische Symptomatik (Tabelle 1) mit den jeweils gemessenen Metabolitwerten (Abb. 7), so findet sich keine durchgehende Beziehung zwischen der beobachteten ST-Streckensenkung im EKG bzw. dem Auftreten pectanginöser Schmerzen und der gemessenen Freisetzung von Adenosin. Offensichtlich wird die Adenosinfreisetzung aus dem menschlichen Herzen im wesentlichen von dem Zustand der Koronargefäße, d.h. dem Vorliegen einer Koronarstenose, beeinflußt. Dieser Schluß wird durch entsprechende Messungen an einem Patienten mit koronarer Herzkrankheit (Patient 11) vor und nach erfolgreicher Bypass-Operation bestätigt: während Vorhofstimulation präoperativ mit einer deutlich gesteigerten Adenosin-Freisetzung einhergeht, führt das gleiche Stimulations-Protokoll nach Bypass-Operation nicht mehr zu einer nennenswerten Adenosin-Freisetzung (Tab. 2).

Während frühere Untersucher die koronarvenöse Freisetzung verschiedener Purinverbindungen immer nur an Koronarkranken gemessen

haben (FOX et al. 1974; REMME et al. 1977; EDLUND et al. 1985), werden in der vorliegenden Studie erstmals Daten über arteriovenöse Konzentrationsmessungen von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin an Koronargesunden mitgeteilt. Im Gegensatz zu den Koronarkranken findet man bei koronargesunden Patienten signifikant niedrige arterielle und venöse Plasmaspiegel. Darüber hinaus besteht bei Koronargesunden praktisch keine arteriovenöse Differenz für Adenosin, während Koronarkranke, in Übereinstimmung mit Daten in der Literatur, eine Netto-Adenosinaufnahme unter Ruhebedingungen zeigen.

Aus tierexperimentellen Untersuchungen ist bekannt, daß ein Ungleichgewicht zwischen Sauerstoffangebot über das Koronarsystem und myokardialen Sauerstoffverbrauch, der entscheidende Parameter ist, der die Adenosinbildung am Herzen bestimmt (BARDENHEUER, SCHRADER 1986). Eine alleinige Steigerung des Sauerstoffverbrauches führt zu keiner Veränderung der Adenosinbildung, wenn ein adäquates Sauerstoffangebot gewährleistet ist. Adenosin stellt folglich einen empfindlichen Index dar, der auf Veränderungen des Oxygenierungsgrades des Myokards reagiert (VROBEL, JORGENSEN 1982). Diese tierexperimentellen Ergebnisse werden durch die nun am Menschen gewonnenen Daten bestätigt. Sie legen den Schluß nahe, daß Adenosin als ein empfindlicher metabolischer Marker zum Nachweis einer Myokardischämie herangezogen werden kann.

In diesem Zusammenhang sei auf folgenden Befund hingewiesen. Bei dem koronarkranken Patienten 12 fand sich unter Ruhebedingungen mit $0,8 \mu\text{mol/l}$ der höchste arterielle Plasmaspiegel von Adenosin. Interessanterweise zeigte dieser Patient alle Zeichen einer Ruhedyspnoe. Es scheint somit möglich, daß der Oxygenierungsgrad des Blutes die Höhe der arteriellen Spiegel von Adenosin unmittelbar beeinflussen kann. Möglicherweise kommt hierbei der

Lunge selbst eine zentrale Bedeutung zu (FREDHOLM 1961).

Veränderungen des myokardialen Laktatstoffwechsels werden weiterhin herangezogen, um den Schweregrad einer Myokardischaemie abzuschätzen (VROBEL, JORGENSEN 1982). Einer breiten Anwendung von Laktat als Index für eine Myokardischaemie sind jedoch Grenzen gesetzt. So konnte gezeigt werden, daß bei Vorliegen einer Ischaemie die Bildungslage von Laktat nicht konstant ist und einen biphasischen Verlauf aufweist (APSTEIN et al. 1979). Eine Abnahme der Laktatproduktion innerhalb von 15 min bis auf 50% des Initialwertes wurde beschrieben, obwohl der Grad der Ischaemie unverändert blieb. Weiterhin geht die Laktatfreisetzung nicht immer dem Schweregrad der Ischaemie parallel. Der Übergang von einer mittleren zu einer schweren Ischaemie kann sogar mit einer Abnahme der Laktatfreisetzung einhergehen (APSTEIN et al. 1979; ROVETTO et al. 1975). Darüber hinaus muß man bedenken, daß das Blut des Koronarsinus ein gemischt venöses Blut darstellt, wobei der Laktatspiegel sich aus der Laktatbildung aus dem ischaemischen Gebiet und der Laktataufnahme im nicht-ischämischen Myokard zusammensetzt. Ähnliche Schlußfolgerungen bezüglich der Aussagekraft von Laktatspiegeln muß man auch aus den wenigen Messungen an Patienten ziehen, bei denen in der vorliegenden Studie gleichzeitig die Adenosin- und Laktatbildung bestimmt wurden (Abb. 12). Lediglich 2 Patienten aus der Gruppe der Koronarkranken wiesen eine deutliche Netto- Laktatproduktion auf. Diese Patienten zeigten auch die ausgeprägteste klinische Symptomatik, gemessen am Angina pectoris-Schmerz und der ST-Strecken-senkung.

Die Halbwertszeit von Adenosin im Blut ist bekanntlich sehr kurz (v. BELLE, 1968; KLABUNDE, 1983) und nach eigenen Messungen kürzer als 10 Sekunden (Abb. 4). Dies hat wichtige Konsequenzen,

sowohl für die technische Seite der Blut- bzw. Plasmagewinnung, als auch für die Interpretation der gemessenen Werte. Um den tatsächlichen Plasmaspiegel von Adenosin messen zu können, ist es notwendig, den Stoffwechsel von Adenosin im Blut unmittelbar nach der Entnahme so schnell wie möglich zu unterbrechen. Das von uns verwendete Abnahmesystem in Form von zwei gekoppelten Spritzen erfüllt diese Voraussetzungen. Durch sofortige Mischung des Blutes mit Dipyridamol, einem wirksamen Hemmstoff des Nukleosid-Transportes (BUNAG et al. 1964; SCHRADER et al. 1972), wird die Aufnahme von Adenosin in die Erythrozyten und damit die weitere Verstoffwechselung zum AMP unter Vermittlung der Adenosinkinase bzw. zu Inosin mittels Adenosindesaminase verhindert. Der rasche Stoffwechsel von Adenosin erklärt wahrscheinlich auch, warum einige Untersucher bei einer Belastungs-induzierten Angina keine Veränderungen der Adenosinspiegel nachweisen konnten, sondern lediglich Veränderungen bei den Abbauprodukten von Adenosin, nämlich Inosin und Hypoxanthin (REMME et al. 1977, KUGLER 1979).

Obwohl die von uns entwickelte und angewendete Methode es erlaubt, Veränderungen der Plasma-Adenosinkonzentration am Ort der Blutgewinnung zu messen, so besteht Grund zu der Annahme, daß die erhobenen Werte nur unzureichend die im Herzen selbst sich vollziehenden Metabolitveränderungen widerspiegeln. Die Zeit, die Adenosin benötigt, um von seinem Entstehungsort im Myokard in den Koronarsinus zu gelangen, kann anhand von Daten über die mittlere Transitzeit von Indikatoren abgeschätzt werden und beträgt ca. 1-2 Sekunden. Daraus folgt, daß bei der extrem kurzen Halbwertszeit von Adenosin im Blut nur noch ein Teil im Koronarsinus nachweisbar ist, möglicherweise nur die "Spitze des Eisberges".

In Anbetracht der kurzen Halbwertszeit von Adenosin im Blut ist es nicht möglich, mit Hilfe der von uns erhobenen Messungen, Aus-

sagen über die Bedeutung von Adenosin bei der metabolischen Regulation der Koronardurchblutung zu treffen. Zwar fand sich an koronargesunden Patienten trotz einer Stimulations-induzierten Steigerung des Koronarflusses keine erhöhte Adenosin-Freisetzung; es ist jedoch denkbar, daß die Konzentrationsveränderungen von Adenosin zu gering waren, um sich als meßbare Unterschiede im Koronarsinus nachweisen zu lassen. In dieser Hinsicht stimmen die am Menschen erhobenen Befunde gut mit den Daten am Hund überein, wo ebenfalls eine durch Vorhofstimulation induzierte Steigerung des Sauerstoffverbrauchs nicht mit einer messbar erhöhten Adenosin-Freisetzung einhergeht (MANFREDI, SPARKS 1982).

Dipyridamol ist seit langem als koronardilatierende Substanz bekannt (KADATZ 1959). Obwohl schon früh vermutet wurde, daß die Wirkung von Dipyridamol durch Adenosin vermittelt ist (GERLACH, DEUTICKE 1963 und 1966; MIURA et al. 1967), konnte dieser Zusammenhang erst in jüngster Zeit direkt nachgewiesen werden (BECKER et al. 1985; HENRICHS et al. 1982). Dipyridamol hemmt die Aufnahme von Adenosin in die Erythrozyten (SCHRADER et al. 1972; KOSS et al. 1962) und in isolierte Blutgefäße (KALSNER 1975). Es erhöht die Gewebsspiegel von Adenosin im Meerschweinchenherz (DEGENRING et al. 1976) und potenziert die Verminderung des diastolischen Blutdrucks, der durch Gabe von Adenosin ausgelöst wird (BRETSCHNEIDER et al. 1959). Die dilatierende Wirkung von Dipyridamol wird durch Theophyllin antagonisiert, ein weiterer Hinweis dafür, daß Dipyridamol unter Vermittlung von Adenosin seine Wirkung entfaltet (AFONSO 1970).

In Übereinstimmung mit kürzlich von Sollevi mitgeteilten Befunden (SOLLEVI et al. 1984), erhöht eine intravenöse Infusion von Dipyridamol am Menschen den Plasmaspiegel von Adenosin um ca. 150%. Interessanterweise nimmt unter Dipyridamol nicht nur die koronarvenöse Adenosinkonzentration zu, sondern im gleichen Maße auch der arterielle Spiegel. Dementsprechend ändert sich die arteriovenöse Differenz für Adenosin nicht. Dieser Befund ist

überraschend, da Dipyridamol in der verwendeten Dosierung zu einer starken Zunahme des Koronarflusses führt, das durch eine vermehrte Bereitstellung von Adenosin bedingt sein soll (BECKER et al. 1985). Allerdings nimmt in der vorliegenden Untersuchung unter Dipyridamol der koronarvenöse Spiegel von Inosin stärker zu, was als Ausdruck einer gesteigerten myokardialen Adenosinbildung zu werten ist (Abb. 13).

Ein unerwarteter Befund betrifft die Tatsache, daß Dipyridamol bei Koronargesunden, aber insbesondere bei koronarkranken Patienten, zu einer deutlichen Abnahme der Plasmaspiegel von Hypoxanthin führt (Abb. 13). Dieser Befund läßt sich wahrscheinlich durch Besonderheiten des Inosin-Stoffwechsels zwanglos erklären. Das Enzym Nukleosidphosphorylase, das den Abbau von Inosin zu Hypoxanthin katalysiert, ist ein zytosolisches Enzym, das im Herzen, vermutlich aber auch in anderen Organen und Geweben, ausschließlich im vaskulären Endothel vorkommt (RUBIO, BERNE, 1980). Wird durch Dipyridamol die Wiederaufnahme von Adenosin bzw. Inosin in die Endothelzellen gehemmt, so führt dies über eine verminderte Substratkonzentration an der Nukleosidphosphorylase zu einer verminderten Bildung und Freisetzung von Hypoxanthin .

E. ZUSAMMENFASSUNG

An 14 Patienten wurden im Rahmen koronarangiographischer Untersuchungen die arteriokoronarvenösen Konzentrationsdifferenzen von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin unter Kontrollbedingungen, elektrischer Vorhofstimulation und nach Dipyridamolgabe bestimmt.

7 Patienten zeigten ein koronarangiographisch unauffälliges Bild ("Koronargesunde"); 7 Patienten waren durch eine 1-, 2- oder 3-Gefäßerkrankung gekennzeichnet ("Koronarkranke"). Die Proben-gewinnung erfolgte über entsprechende Katheter mit Hilfe eines speziell entwickelten Spritzensystems, das es erlaubte, den raschen Stoffwechsel von Adenosin im Blut unmittelbar bei der Blutentnahme zu unterbrechen. Die Analyse von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin erfolgte unter Anwendung empfindlicher hochdruck-chromatographischer Verfahren, wobei zur Quantifizierung jeder Purinverbindung das Verfahren des enzymatischen Peak-Shiftes angewendet wurde. Folgende Ergebnisse wurden gewonnen:

1. Unter Ruhebedingungen betrug bei "Koronargesunden" der arterielle Konzentrationswert für Adenosin $0,16 \mu\text{M}$, Inosin $0,22 \mu\text{M}$ und Hypoxanthin $0,59 \mu\text{M}$. Für keine der genannten Purinverbindungen bestand eine meßbare arterio-koronarvenöse Differenz.

2. Vorhofstimulation bei Frequenzen bis 150/min führte bei keinem der koronargesunden Patienten zu einer vermehrten Freisetzung von Adenosin, Inosin und Hypoxanthin aus dem Herzen, obwohl der Koronarfluß deutlich zunahm. Aufgrund der äußerst kurzen Halbwertszeit von Adenosin im Blut (< 10 Sekunden) erlauben die erhobenen Daten keine sichere Aussage über die physiologische Bedeutung von Adenosin im Rahmen der Koronardurchblutungsregulation.

3. Bei koronarkranken Patienten lagen die Plasmaspiegel von Adenosin etwa doppelt so hoch wie bei dem koronargesunden Kollektiv.

4. Vorhofstimulation auf 120/min führte bei koronarkranken Patienten zu einer signifikanten Steigerung der Freisetzungsrates von Adenosin, obwohl der Koronarfluß nur geringfügig zunahm. Die Werte für Inosin stiegen ebenfalls an, bei Hypoxanthin fanden sich jedoch keine Veränderungen.

5. Die Freisetzung von Adenosin schien im wesentlichen vom koronarangiographisch nachgewiesenen Stenosegrad abhängig zu sein; sie korrelierte kaum mit ST-Strecken-Veränderung oder mit dem Angina-pectoris-Schmerz.

6. Dipyridamol führte bei koronargesunden und koronarkranken Patienten zu einer Verdoppelung des Plasmaspiegels von Adenosin. Die Freisetzungsrates von Adenosin aus dem Herzen änderte sich jedoch nicht. Ähnliche Ergebnisse fanden sich für Inosin.

7. Die Plasmaspiegel von Hypoxanthin nahmen in beiden Patientenkollektiven unter dem Einfluß von Dipyridamol deutlich ab; dies läßt sich zwanglos mit der Lokalisation des Hypoxanthin-bildenden Enzyms (Nukleosidphosphorylase) im Koronarendothel erklären.

LITERATURVERZEICHNIS

Afonso, S.:

Inhibition of coronary vasodilating action
of dipyridamole and adenosine by amino-
phylline in the dog.

Circ. Res. 26: 743-752, 1970

Apstein C.S., F. Garvino, and W.B. Hood:

Limitations of lactate production as an
index of myocardial ischemia.

Circ. 60, No. 4, 1979

Bardenheuer H., J. Schrader:

The supply-demand ratio for oxygen
determines the formation of
adenosine by the isolated
perfused working guinea pig heart.

Am. J. Physiol. in press: 1986

Becker, B.F., H. Bardenheuer, I. Overhage de Reys,
E. Gerlach

Effects of theophylline and dipyridamole on
coronary venous adenosine release and coro-
nary dilation.

In: Adenosine: Receptors and modulation of
cell function. Eds. V. Stefanovich, V.

Rudolphi, P. Schubert. IRL Press Limited,
England

van Belle, H.:

Uptake and deamination of adenosine by blood,
species differences, effect of pH, ions,
temperature and metabolic inhibitors.

Biochem. Biophys. Acta 192: 124-132, 1969

Berne, R.M.:

Cardiac nucleotides in hypoxia: possible role
in regulation of coronary blood flow.

Am. J. Physiol. 204: 317-322, 1963

Berne R.M.:

The role of adenosine in the regulation of
coronary blood flow.

Circ. Res. 47: 807-813, 1980

Bretschneider, H.J., A. Frank, U. Bernard, K. Koch-
siek, and F. Shielen:

Die Wirkung eines Pyrimido-pyrimidin-Deri-
vates auf die Sauerstoffversorgung des Herz-
muskels.

Arzneim. Forsch. 9: 49-59, 1959

Bunag, R.D., C.R. Douglas, S. Ismai, and R.M. Berne:

Influence of a pyrimido pyrimidine
derivation on a deamination of adenosine by
blood.

Circ. Res. 15: 83-88, 1964

Degenring, F.H., Curnish, R.R., Rubio, R.S.

Berne, R.M.:

Effect of dipyridamole on myocardial adeno-
sine metabolism and coronary flow in

hypoxia and reactive hyperemia in the
isolated perfused guinea pig heart.
J. Mol. Cell. Card. 8: 877-888, 1976

Edlund, E., B. Berglund, U. von Dörmel, L. Kayser,
J. Novak, C. Patroso, A. Sollevi:

Coronary flow regulation in patients with
ischemic heart disease; Release of purines
and prostacyclin and the effect of inhibition
of prostaglandin formation.
Circ. 71: 1113-1120, 1985

Feigl, Eric O.:

Coronary physiology
Physiol. Rev. 63: 1-205, 1983

Fox, A.C., G.E. Reed, E. Glassman, A.J. Kaltmann, and
B.B. Silk:

Release of adenosine from human hearts during
angina induced by rapid atrial pacing.
J. Clin. Invest. 53: 1447-1457, 1974

Fox, A.C., G.E. Reed, H. Milman, B. Silk:

Release of nucleosides from canine and human
hearts of prior ischemia.
Am. J. Card. 43: 152-158, 1978

Fredholm, B.B.:

Release of adenosine from rat lung by
antigen and compound 48/80.
Acta Physiol. Scand. 111: 507-508, 1981

Gerlach, E., B. Deuticke:

Bildung und Bedeutung von Adenosin in dem
durch Sauerstoffmangel geschädigten
Herzmuskel unter dem Einfluß von 2,6-Bis(diaethanolamino)-4,8-dipiperidino-pyrimido(5,4-d)
pyrimidin.

Arzneimittelforschung 13: 48, 1963

Gerlach, E., B. Deuticke und R.H. Dreisbach:

Der Nukleotid-Abbau im Herzmuskel bei Sauerstoffmangel und seine mögliche Bedeutung für
die Coronardurchblutung.

Naturwiss. 50: 228-229, 1963

Gerlach, E., B. Deuticke und F.W. Koss:

Einfluß von Pyrimidopyrimidin- und Pteridin-Derivaten auf Phosphat- und Adenosin-Permeabilität menschlicher Erythrocyten.

Arzneimittelforschung 15: 558-563, 1965

Gerlach E. und B. Deuticke:

Vergleichende Untersuchungen über die Bildung
von Adenosin im Myokard verschiedener Tier-species bei Sauerstoffmangel.

Klinische Wochenschrift 44: 1307-1310, 1966

Henrichs, K.J., Matsuoka H. und Schaper W.:

Über die Wirkung von Adenosin-desaminase
auf die myokardiale reaktive Hyperämie
und die Koronardilatation nach Adenosin,
Dipyridamol und Lidoflazin.

Z. Kardiologie 71, Suppl. 224, 1982

Kadatz, R.:

Die pharmakologischen Eigenschaften der neuen koronarerweiternden Substanz 2,6 - Bis (diaethanolamino)-4,8-dipyperidino-pyrimido (5,4-d)-pyrimidine.

Arzneimittel - Forsch. 9: 39, 1959

Kalsner, S.:

Adenosine and dypiridamole actions and interactions on isolated coronary strips of cattle.

Br. J. Pharmacol. 55: 439-445, 1975

Klabunde, R.:

Dipyridamole inhibition of adenosine metabolism in human blood.

Eur. J. Pharmacol. 93: 21-26, 1983

Koss, F.W., Beisenherz G., Maerkisch:

Die Eliminierung von Adenosin aus dem Blut unter dem Einfluß von 2,6-Bis(diaethanolamino)-4,8-dipiperidino-pyrimido (5,4-d) pyrimidin und Papaverin.

Arzneimittelforschung 12: 1130, 1962

Kugler, G.:

Myocardial release of inosine, hypoxanthine and lactate during pacing-induced angina in human with coronary artery disease.

Eur. J. Cardiol. 9: 227, 1979

Manfredi, J.P., and H.V. Sparks, jr.:

Adenosine's role in coronary vasodilation-
induced by atrial pacing and norepinephrine.
Am. J. Physiol. 243: H536-545, 1982

Miller, W.L., L. Belardinelli, A. Bacchus,

D.H. Foley, R. Rubio, and R.M. Berne:

Canine myocardial adenosine and lactate
production, oxygen consumption and coronary
blood flow during stellate ganglion
stimulation.
Circ. Res. 45: 708-718, 1979

Miura, M., S. Tominaga, and K. Hashimoto:

Potentiation of reactive hyperemia in the
coronary and femoral circulation by the
selective use of 2, 6- Bis (diethanolamino)
4, 8 di-piperidino-pyrimidinol (5, 4-d),
pyrimidine.
Arzneimittelforschung 17: 976-979, 1967

Olsson, R.A.:

Changes in content of purine nucleosides in
canine myocardium during coronary occlusion.
Circ. Res. 26: 301-306, 1970

Olsson, R.A., D. Saito, and C.R. Steinhart:

Compartmentalization of the adenosine pool
of dog, and rat heart.
Circ. Res. 50: 617-626, 1982

Olsson, R.A., J.A. Snow, and M.K. Gentry:

Adenosine metabolism in canine myocardial
reactive hyperemia.
Circ. Res. 42: 358-362, 1978

- Remme, W.J., J.W. de Jong, and P.D. Verdouw:
Effects of pacing-induced myocardial ischemia
on hypoxanthine efflux from the human heart.
Am. J. Cardiol. 40: 55, 1977
- Rovetto, M.J., W.F. Lamberton, J.R. Nelly:
Mechanisms of glycolytic inhibition in
ischemic rat hearts.
Circ. Res. 37: 742, 1975
- Rubio, R., R.M. Berne:
Release of adenosine by the normal
myocardium in dogs and its relationship to
the regulation of coronary resistance.
Circ. Res. 25: 407-415, 1969
- Rubio, R., R.M. Berne, and M. Katori:
Release of adenosine in reactive hyperemia of
the dog heart.
Am. J. Physiol. 216: 56-62, 1969
- Rubio, R., R.M. Berne:
Localisation of purine and pyrimidine
nucleoside phosphorylases in heart, kidney
and liver.
Am. J. Physiol. 239: 721-730, 1980
- Rubio, R. N.T. Wiedemeier, R.M. Berne:
Relationship between coronary blood flow
and adenosine production and release.
J. Mol. Cell. Cardiol. 6: 561-566, 1974

Saito, D.J., D.G. Nixon, R.B. Vomacka, and
R.A. Olsson:

Relationship of cardiac oxygen usage,
adenosine content, and coronary resistance
in dogs.

Circ. Res. 47: 875-882, 1980

Schrader, J., F.J. Haddy, E. Gerlach:

Release of adenosine, inosine and hypo-
xanthine from the isolated guinea pig heart
during hypoxemia, flow-autoregulation and
reactive hyperemia.

Pflügers Arch. 369: 1-6, 1977

Schrader, J., R. Rubio, and R.M. Berne:

Uptake and metabolism of adenosine by human
erythrocyte ghosts.

Am. J. Physiol. 223: 159-166, 1972

Schrader, J., W. Schütz, and H. Bardenheuer:

Role of s-adenoyl-homocysteine hydrolase in
adenosine metabolism in mammalian heart.

Biochem. J. 196: 65-70, 1981

Sollevi, A., J. Östergren, B. Fagrell, and
P. Hjerdahl:

Theophylline antagonizes cardiovascular
reponses to dipyrindamole in man without
affecting increases in plasma adenosine.
Acta Physiol. Scand. 121: 165-171, 1984

Tauchert, M., K. Kochsiek, H.W. Heiss, B.E. Strauer,
D. Kettler, H.D. Reploh, G.Rau, H.J. Bretschneider:
Measurement of coronary blood flow in man by
the argon method.
In "Myocardial Blood" Flow in Man, Torino,
Minerva Medica, 1972

Tauchert, M., V. Hassbach, D.W. Behrenbeck,
W. Janssen, B. Niehues, H.H. Hilger:
Medikamentöse Induktion einer Angina pec-
toris als neuer Test in der Vorfeld-Diag-
nostik der koronaren Herzkrankheit.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 82 Pt. 2:
1153-1155, 1976.

Vrobel, T.R., C.R. Jorgensen:
Myocardial lactate and adenosine metabolite
production as indicators of exercise-induced
myocardial ischemia in the dog.
Circulation 66, No. 3, 1982

Lebenslauf

Geboren wurde ich am 18.2.1956 in Göppingen als erstes Kind des Walter Ontyd und seiner Ehefrau Lilliane.

1962 - 1966 Besuch der Volksschule in Göppingen

1966 - 1975 Besuch des Hohenstaufengymnasiums in Göppingen

1975 - 1978 Ausbildung als MTA am Katarinenhospital in Stuttgart

1978 dort Staatsexamen

1978 Beginn des Medizinstudiums an der Universität München

1980 Ärztliche Vorprüfung

1981 Erste ärztliche Prüfung

1983 Zweite ärztliche Prüfung

Mai 1984 Dritte ärztliche Prüfung

Juni 1984 Erteilung der Approbation als Arzt

Juli 1984 - November 1985 Ableistung der Wehrpflicht am Bundeswehrkrankenhaus München, Abteilung für Anästhesie

Seit Januar 1986 als wissenschaftlicher Assistent in der Kardiologischen Klinik der Universität Düsseldorf tätig.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Jürgen Schrader für die Überlassung des Themas, seine wertvollen Anregungen und die freundliche Zusammenarbeit.

Danken möchte ich Herrn Privatdozent Dr. Dieter Opherk und seiner Gattin für die stets freundliche und hilfsbereite Unterstützung.

Herrn Professor Dr. Gerlach danke ich für die großzügige Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut, sowie für die wohlwollende Korrektur des Manuskriptes.

Herrn Professor Dr. Kübler danke ich für die Arbeitsmöglichkeit in seiner Klinik.

